



MONOCLONAL ANTIBODIES PRODUCED  
BY THE RAT LYMPH NODE METHOD

For research use only

## Anti Collagen IV $\alpha$ 5(IV) Chain, Human (Mono)

Cat#: SGE-C452 Quantity: 500  $\mu$ l

**This product can be used for immunostaining of cryostat sections and for western blotting**

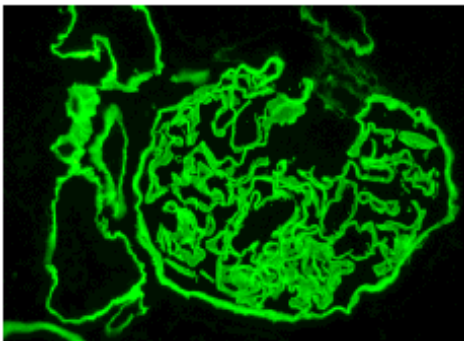
### How to stain human cryostat sections with C-452-EX (H52)

#### **Materials**

1. Acid solution : KCl-HCl buffer, pH 1.5, Ion strength=0.1 (Mix equal volumes of 0.1 M KCl and 0.1 M HCl.)
2. Blocking solution: 10% goat serum (normal goat serum diluted with PBS)
3. First antibody: H52 monoclonal Ab is usually diluted to 1/10 - 1/100 with PBS containing 1 mg/ml of bovine serum albumin before use.
4. Secondary Ab: Affinity purified Ab to rat IgG (Cappel #55760) is usually diluted to 1/50- 1/100 with PBS containing 5% human normal serum before use.

#### **Procedure**

1. Cryostat sections: 4  $\mu$ m
2. Treatment with acetone for 10 min
3. Acid-solution treatment with 0.1 M KCl- HCl (pH1.5) for 10 min
4. Washing with PBS
5. Blocking with 10% normal goat serum for 10 min
6. Washing
7. First Ab for 60 min
8. Washing
9. Secondary Ab for 30 min
10. Washing
11. Mount with Perma Fluor (Tanner #11611)



Human cryostat section stained with monoclonal antibody H52.

Glomerular basement membrane (BM), part of tubular BM, and Bowman's capsular BM are stained.



COSMO BIO CO., LTD.  
Inspiration for Life Science

Engl. 060523

MONOCLONAL ANTIBODIES PRODUCED  
BY THE RAT LYMPH NODE METHOD

Anti Collagen IV  $\alpha$ 5(IV) Chain, Human (Mono)

For research use only

- Product name: Anti Collagen IV  $\alpha$ 5(IV) Chain, Human (Mono)  
Code: SGE-C452  
Quantity: 500  $\mu$ l  
Appearance: Solution. Diluted ascitic solution obtained from nude mice; diluted with culture medium containing 10 % fetal bovine serum and 0.1%  $\text{NaN}_3$ .  
Clone names: H52 (rat IgG2b/kappa)  
Specificity of antibodies: H52 is specific to NC1 domain of  $\alpha$ 5(IV) (Reference 1).  
Reactive with NC1 domain of  $\alpha$ 5(IV) of rat, rabbit, guinea pig, dog, and bovine.  
Preparation of antibodies : Monoclonal antibodies were prepared by the rat lymph node method developed by Shigei Medical Research Institute with a synthetic peptide of type IV collagen as an immunogen.  
use : Staining of human cryostat sections by indirect immunofluorescence (Acid treatment is necessary.); Western blotting (dilution x100)  
Storage : Store at below  $-30^\circ\text{C}$ . Stable at these conditions for several years  
Reference : 1) Sado et al. (1995) Establishment by the rat lymph node method of epitope-defined monoclonal antibodies recognizing the six different a chains of human type IV collagen. Histochem. Cell Biol. 104: 267-275.

**Distributor**



COSMO BIO CO., LTD.  
Inspiration for Life Science

TOYO EKIMAE BLDG. 2-20, TOYO 2CHOME  
KOTO-KU, TOKYO 135-0016, JAPAN  
TEL : +81-3-5632-9617  
FAX : +81-3-5632-9618  
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>  
e-mail : [export@cosmobio.co.jp](mailto:export@cosmobio.co.jp)

**Manufacturer**



**Shigei Medical Research Institute**

2117 Yamada , Okayama  
701-0202, Japan  
TEL: +81-86-282-3113  
FAX:+81-86-282-3115  
E-mail: [inst@shigei.or.jp](mailto:inst@shigei.or.jp)

[www.cosmobio.co.jp](http://www.cosmobio.co.jp)



MONOCLONAL ANTIBODIES PRODUCED  
BY THE RAT LYMPH NODE METHOD

しげい  
重井医学研究所 〒701-0202 岡山市山田2117  
TEL: 086-282-3113, FAX:086-282-3115  
E-mail: inst@shigei.or.jp

研究用

メーカー略号: SGE

## 抗ヒトIV型コラーゲン 5鎖抗体 (モノクローナル抗体)

Anti Collagen IV  $\alpha$ 5(IV) Chain, Human (Mono)

品番: C-452 包装: 500  $\mu$ l

**この抗体はヒトIV型コラーゲン 5鎖に対するラットモノクローナル抗体です。  
凍結切片染色、ウエスタンブロットに使用できます。**

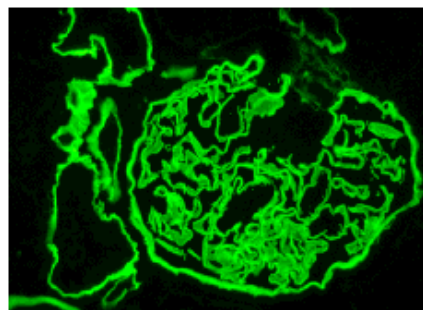
### (例1) 凍結切片を用いた間接蛍光抗体法

#### 材料

1. 酸性処理液: KCl-HCl buffer, pH 1.5, Ion strength=0.1 (0.1 M KCl と0.1 M HCl を等量混ぜる。)
2. ブロッキング液: 10% ヤギ血清 (正常ヤギ血清を PBSで10倍に希釈)
3. 一次抗体: H52 抗体 (C-542) を 10から100 倍に使用直前に希釈。牛血清アルブミンを1 mg/ml で含むPBSで希釈する。
4. 二次抗体: 蛍光ラベル抗ラットIgG 抗体 (Cappel #55760など)。5%ヒト正常血清を含むPBS で使用直前に50から100倍に希釈する。

#### 方法

1. 凍結切片: 4  $\mu$ m
2. アセトン処理: 10分間
3. 酸性処理: 10分間
4. PBS洗浄
5. ブロッキング: 10分間
6. PBS洗浄
7. 一次抗体反応: 60分間
8. PBS洗浄
9. 二次抗体染色: 30分間
10. PBS洗浄
11. Perma Fluor (Tanner #11611)を用いて封入



C-452 (H52) で染色したヒト腎臓凍結切片  
糸球体基底膜、一部の尿細管基底膜、ボウマン嚢基底膜が染色される。

### (例2) ウエスタンブロット法

IV型コラーゲンNC1画分をSDS電気泳動後、イムノブロットメンブレンに転写し、ブロッキング処理を行う。ブロッキング処理に用いた試薬 (BSA, ヤギ血清等) を1%で含むトリス - 塩酸緩衝液で本試薬を10倍に希釈して1時間振とうしながらメンブレンと反応させる。酵素標識した抗ラットIgG抗体を反応後、発色させる。



MONOCLONAL ANTIBODIES PRODUCED  
BY THE RAT LYMPH NODE METHOD

しげい  
重井医学研究所 〒701-0202 岡山市山田2117  
TEL: 086-282-3113, FAX:086-282-3115  
E-mail: inst@shigei.or.jp

研究用

---

## 抗ヒトIV型コラーゲン 5鎖抗体

Anti Collagen IV  $\alpha$ 5(IV) Chain, Human (Mono)

---

- 品 名: 抗ヒトIV型コラーゲン 5鎖抗体
- 品 番: C-452
- 包 装: 500  $\mu$ l
- 性 状: 冷蔵品。本試薬は、ハイブリドーマをヌードマウス腹腔で増殖させ得られた腹水を血清GIT培地(10%牛血清を含む)で希釈したものです。保存のために0.1%の $\text{NaN}_3$ を加えています。
- クローン名: H52 (ラット IgG2b/kappa)
- 特 異 性: ヒトIV型コラーゲン 5鎖のNC1と特異的に反応します。ヒトIV型コラーゲン 1鎖、2鎖、3鎖、4鎖、6鎖とは反応しません。エピトープはアミノ酸配列でSKPQSETLです。ラット、ウサギ、モルモット、イヌ、ウシとも反応します。マウスとは反応しません。
- 免 疫 原: ヒトIV型コラーゲン 5鎖NC1のC末端付近の合成ペプチドを使用しました。
- 用 途: 凍結切片の間接蛍光抗体染色(酸性処理が必要です。)
- 保 存: 4 では1か月は安定です。長期保存には - 30 以下で凍結保存をお勧めします(状態で数年以上安定です)。頻繁な凍結融解は抗体価の低下をひきおこすことがあります。
- 参考文献: 1) Sado et al. (1995) Establishment by the rat lymph node method of epitope-defined monoclonal antibodies recognizing the six different a chains of human type IV collagen. Histochem. Cell Biol. 104: 267-275.
- 製造元: 重井医学研究所  
〒701-0202 岡山市山田2117  
TEL: +81-86-282-3113; FAX: +81-86-282-3115  
E-mail: inst@shigei.or.jp
-